

⑫公開特許公報(A)

昭54—132218

⑬Int. Cl.²
A 61 K 35/78
C 07 G 3/00識別記号 ⑭日本分類
30 A 31⑮庁内整理番号 ⑯公開 昭和54年(1979)10月15日
6617-4C
6956-4H 発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑰サボニン成分の分離方法

洋曹達工業株式会社内

⑱特 願 昭53—37464

⑲発明者 生重哲男

⑳出 願 昭53(1978)4月1日

新南陽市大字富田4560番地 東

㉑発明者 松下駿

洋曹達工業株式会社内

新南陽市大字富田4560番地 東

㉒出願人 東洋曹達工業株式会社

新南陽市大字富田4560番地

明細書の添書(内容に変更なし)
明細書

1 発明の名称

サボニン成分の分離方法

10⁸ Åを有するシリカゲルの表面化学結合型ゲルである特許請求の範囲第1項記載のサボニン成分の分離方法。

2 特許請求の範囲

(1) 充填剤を充填した充填塔にサボニン成分を含む溶液および溶離液を通液することによりサボニン成分および/またはその他の共存成分を同時にあるいは各別に分離することを特徴とするサボニン成分の分離方法。

(2) 充填剤が少なくとも200 kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5～177 μ, 孔径1.3～10⁸ Åを有する架橋重合ゲルである特許請求の範囲第1項記載のサボニン成分の分離方法。(3) 充填剤が多孔性担体の表面で炭素原子に水酸基が結合した化学構造をもち、少なくとも200 kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5～177 μ, 孔径1.3

3 発明の詳細な説明

本発明は、サボニン含有液のサボニン成分および/またはその他の共存成分を液体クロマトグラフィーにて同時にあるいは各別に分離することを特徴とするサボニン成分の分離方法に関する。

サボニンは60以上の科にわたる植物に見出されており、その特異的な性質において古くから和漢薬の有効成分の一つとしてよく知られている。例えばユリ科植物のハナスゲの根から得られる知母(チモ)やハマビシ科植物から得られる癡瘍木(ユウソウボク)は生薬として市販されている。多くのサボニンは植物の根に見出されており、ヒ

メハギ科のセネガに含まれるセネギン、同じくイトヒメハギの遺志（オンジ）に含まれるオンジサボニンや桔梗根（キキョウ）に含まれるプラチコジンは数種のサボニンの混合物であることも知られている。また柴胡（サイコ）に含まれるサイコサボニンや人参（ニンジン）に含まれるジンセンノサイドも数種のサボニンの混合物である。

一方、植物の葉に含まれるサボニンとしてゴマノハグサ科ジキタリスのブルブレアグリコシドがあり、ターストロファンチスというサボニンはストロファンチスに含まれている。従来、このようなサボニンの分離方法として溶剤分別法や薄層クロマトグラフィーが用いられている。

溶剤分別法として原料をエーテルで洗浄して樹脂や油状物を除いたのち、熱メタノールあるいは熱エタノールで抽出する。得られる粗サボニンをエーテルで洗浄して不純物を除き、あるいはクロロホルムと水との間に分配させて得られる水溶液を透析して精製する。さらに、その濃アルコール溶液からエーテルで分別的に沈殿させる方法がと

られる。しかしながら、この方法で得られるサボニンは十分純粋でなく、他の有機物や無機物を含有し、高純度のものは得られない。

一方、薄層クロマトグラフィーは、固定相にシリカゲル、ポリアミド、セルロースなどを用い、展開溶媒に酢酸エチルとローブタノールと水あるいはクロロホルムと水とメタノールの混合溶媒を用いて分離する方法がとられている。

この方法は操作に熟練を要し、かつ他成分との分離が不十分である。

以上のようにサボニン成分を分離することは困難であった。

本発明者らは、これらの欠点を改善すべく鋭意研究の結果、サボニン成分を迅速かつ簡便に再現性よく分離することができる方法を見出し、本発明を達成したものである。

すなわち、本発明は、サボニン含有液のサボニン成分および/またはその他の共存成分を液体クロマトグラフィーにて同時あるいは各別に分離する方法を提供するものである。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明に用いる充填剤は各種の架橋剤を用いて製造された芳香族系水酸基をもつ重合ゲル、グリコール系重合ゲル、デンブン系重合ゲル、ヒドロキシポリエステルゲル等の多孔性ゲルで、例えばデンブン系ゲルの場合にはデンブン1グラム当量あたり架橋剤としてジビニルスルホン0.1~0.5%をアルカリ性下、室温~100°Cで1~6時間攪拌後、通常の洗浄、分級操作により得られるゲルで少なくとも200kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5~177μ、孔径1.3~1.0⁸Åを有する架橋重合ゲルあるいはシリカゲル等の多孔性担体にシランカップリング剤を反応させて得られる多孔性担体の表面が、炭素原子に水酸基が結合した化学構造を持ち、少なくとも200kg/cm²までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ粒径5~177μ、孔径1.3~1.0⁸Åを有するシリカゲルの表面化学結合型ゲルである。

本発明におけるサボニン成分とは、植物に分布する配糖体を有する成分で、ブルブレアグリコシ

ド、ターストロファンチス等のステロイドサボニン類、セネギン、オンジサボニン、プラチュジン、サイコサボニン、ジンセンノサイド等のトリテルペノイドサボニン類を挙げることができる。

本発明に用いる溶離液は、4~40容積%の水を含む非水溶媒との混合溶媒を用いるものである。該混合溶媒中、水が40容積%を超えるとサボニン成分の分離は不十分となり、4容積%未満ではサボニン成分が充填剤に吸着され、あるいは吸着されない場合であっても、分離時間が長くなり好ましくない。非水溶媒として炭素数1乃至4を有するアルコール類、アセトニトリル、アセトン、ジオキサン、テトラヒドロフラン、ジメチルホルムアミド、酢酸メチルの単独あるいは、これらの混合溶媒を使用できるが、特に水とアセトニトリルの混合溶媒が好ましい。

さらに、本発明におけるクロマトグラフィーの操作条件は、カラム温度が常温~50°C、カラム圧力が1~200kg/cm²で使用するものである。

以上詳述したように本発明により分離されたサ

ボニン成分の分離性は非常に良いため、その定量性はもちろん、分取後、溶媒を揮発させることにより、サボニン成分の分離精製をも可能とするものである。

以下、本発明を実施例により説明する。

実施例 1

薬用人参 1kg を水でソックスレー抽出し、次に水抽出液をn-ブタノールで抽出して、n-ブタノールを蒸発し、粗サボニン 12g を得た。粗サボニン 5.0mL を 5mL の水/アセトニトリル($20/80$ の容量混合比をもつ)溶媒にとかし試料液とした。次に液体クロマトグラフ装置(東洋曹達工業株式会社製、商品名HLC-802UR)を用い、少なくとも $200\text{kPa}/\text{cm}^2$ までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ平均粒径 5\mu m 、平均孔径 $25\times 10^{-6}\text{cm}$ であるデンプン系重合ゲル(東洋曹達工業株式会社製、商品名TSK-GEL LS-170)を $7.5\text{mm ID}\times 30\text{cm}$ のステンレスカラムに充填し、溶離液と

特開昭54-132218(3)
して水/アセトニトリル($20/80$ 容量混合比)溶媒を、圧力 $10\text{kPa}/\text{cm}^2$ 、流速 $0.9\text{mL}/\text{min}$ に調節して通液しておき、試料液 100mL を注入し分離を行った。サボニン成分6種は30分以内に完全に相互分離し、粗サボニン中のサボニン成分を簡便かつ迅速に分離することができた。第1図にそのクロマトグラムを示す。

比較例 1

実施例1において用いた試料液を、シリカゲルを支持体として、展開液にクロロホルム/メタノール/水($65/35/10$ の容量混合比)溶媒を用いる薄層クロマトグラフィーでサボニン成分の分離を行ったところ、ジンセノサイド Rb₂とRb₁のスポットが重なり、またn-ブタノール/酢酸エチル/水($4/1/5$ の容量混合比)溶媒を展開液とした場合でもジンセノサイド Rb₁とRb₂が重なり薬用人参に含まれるサボニン成分と同時に分離することはできなかった。

実施例 2

シリカゲルの表面で炭素原子に水酸基が結合した化学構造をもち、少なくとも $200\text{kPa}/\text{cm}^2$ までの圧力に耐える機械的強度を有し、かつ平均粒度 10\mu m 、平均孔径 $2\times 10^{-6}\text{cm}$ を有するシリカゲルの表面化学結合型ゲル(東洋曹達工業株式会社製、商品名TSK-GEL LS-450)を $7.5\text{mm ID}\times 60\text{cm}$ のステンレスカラムに充填し、圧力 $50\text{kPa}/\text{cm}^2$ に変えて通液する以外は実施例1と同様の操作で測定を行った。

その結果、実施例1と同数のピークに分かれることが確認し、ほぼ同様の分離効果が認められた。

実施例 3

セリ科植物のミシマサイコの根から得られた染胡に含まれているサイコサンニポンを含有する粉末 20mg を 5mL の水/アセトニトリル($18/82$ の容量混合比)溶媒に溶解し試料液とした。次に実施例1において用いた溶離液の混合比を水/アセトニトリル($18/82$ の容量混合比)に変えた以外は、実施例1と同様の操作で測定を行った。その結果6つのピークが出現し、サイコサンニポンは6種のサンニポン成分を含有していることが判明した。第2図にそのクロマトグラムを示す。

実施例 4

実施例2において用いたシリカゲルの表面化学結合型ゲルを $7.5\text{mm ID}\times 60\text{cm}$ のステンレスカラムに充填し、圧力 $50\text{kPa}/\text{cm}^2$ に変えて通液する以外は、実施例3と同様の操作で測定を行った。その結果、分離に要する時間は70分費したが、実施例3と同数のピークに分かれることが確認し、ほぼ同様の分離効果が認められた。

BEST AVAILABLE COPY

特開昭54-132218(4)

レート系ゲル（東洋曹連工業株式会社製、商品名
T S K - G E L L S - 1 6 5) を用いた以外は
実施例 5 と同様の操作で行った。その結果、実施
例 5 と同数のピークに分かれることを確認し、ほ
ぼ同様の分離効果が認められた。

実施例 5

ユリ科の植物ハナスグの根莖から得られた知母
200gを水でソックスレー抽出し、次に水抽出液をローブタノールで抽出して、ローブタノール
を蒸発し、粗サボニン2gを得た。

粗サボニン30mgを10mlの水／アセトニトリル
= 14 / 86 の容量混合比をもつ溶媒にとかし試
料液とした。

次に、実施例1において用いた溶離液の混合比を
水／アセトニトリル(14 / 86 容量混合比)溶
媒に変えた以外は実施例1と同様の操作で測定を行った。その結果サボニン成分2種および共存成
分5種の計7成分は50分以内に完全に相互分離
し、粗サボニン中のサボニン成分を簡便かつ迅速
に分離することができた。

実施例 6

実施例5において少なくとも200kg/cm²まで
の圧力に耐える機械的強度を有し、かつ平均粒
径10μ, 平均孔径2×10⁻²mmであるジメタクリ

実施例 7

実施例5において溶離液として水／メタノール
(20 / 80 の容量混合比) 溶媒を用い、圧力
1.5kg/cm², 流速1ml/minに調節した以外は
実施例5と同様の操作で行った。その結果、サボ
ニン成分2種は完全に分離できた。

4 図面の簡単な説明

第1図および第2図は、液体クロマトグラフィー
において得られるサボニンおよびその他の共存
成分のクロマトグラムを示すものである。

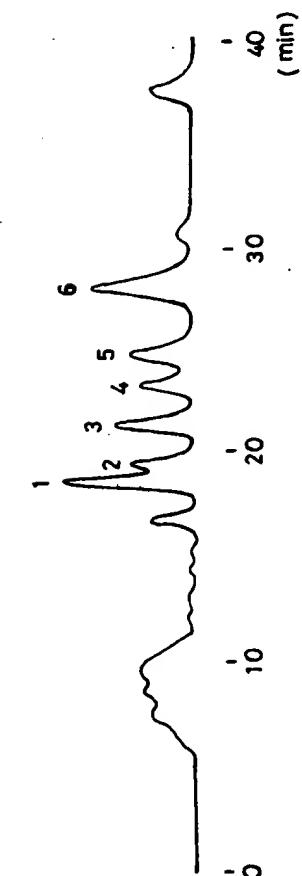
第1図は、薬用人参に含まれるサボニンおよび
共存成分のクロマトグラムである。

第2図は、柴胡に含まれるサボニンおよび共存

成分のクロマトグラムである。

- | | |
|----|-------------------------|
| 1 | ジンセノサイド-R _{b1} |
| 2 | " -R _d |
| 3 | " -R _e |
| 4 | " -R _c |
| 5 | " -R _{b2} |
| 6 | " -R _{b1} |
| 7 | サイコサボニン A |
| 8 | " B |
| 9 | " A |
| 10 | " B |
| 11 | " C |
| 12 | " C |

特許出願人 東洋曹連工業株式会社



昭和53年5月31日

特許庁長官 熊谷 喜二 殿

1 事件の表示

昭和53年特許願第37464号

2 発明の名称

サボニン成分の分離方法

3 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 〒746 山口県新南陽市大字富田4560番地

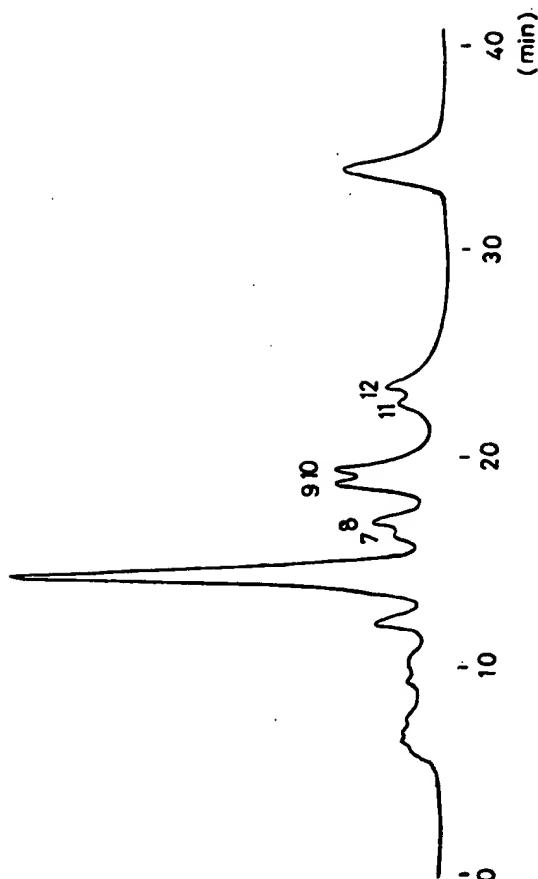
名称 (330) 東洋曹達工業株式会社

代理人 青木周吉

(迷惑先) 〒107 東京都港区赤坂1丁目7番7号(東京ビル)

東洋曹達工業株式会社 特許情報部

電話番号(585)3511

図
2
第

6 補正の対象

明細書全文

(内容に変更なく、タイプ印書による明細書に
補正するもの)

7 補正の内容 別紙の通り

8 添付書類の目録

(II) タイプ印書による明細書全文 1通



BEST AVAILABLE COPY